

OLIGOSACCHARIDE DERIVATIVE HAVING ANTIINFLAMMATORY AND ANTIALLERGIC ACTION

Publication number: JP5178876
Publication date: 1993-07-20
Inventor: OSAWA NOBUO; TAKAHASHI YASUO; KATO KAZUO;
NISHIJIMA KAZUMI
Applicant: MOCHIDA PHARM CO LTD
Classification:
- international: **A61K31/70; A61K31/7012; A61K31/7024;
A61K31/7028; A61P29/00; A61P37/08; A61P43/00;
C07H7/033; C07H13/06; C07H15/10; C12N9/99;
A61K31/70; A61K31/7012; A61K31/7024;
A61K31/7028; A61P29/00; A61P37/00; A61P43/00;
C07H7/00; C07H13/00; C07H15/00; C12N9/99; (IPC1-
7): A61K31/70; C07H7/033; C07H13/06; C07H15/10;
C12N9/99**
- european:
Application number: JP19910346911 19911227
Priority number(s): JP19910346911 19911227

Report a data error here

Abstract of JP5178876

PURPOSE: To obtain the subject derivative, having antiallergic, antiinflammatory and hyaluronidase inhibiting actions and useful as an antiallergic agent, etc. **CONSTITUTION:** The objective glucuronic acid derivative having 2-8 constituent units expressed by formula I {R¹ is H, protecting group or formula II, with the proviso that OR" may be trans-bond, etc., with respect to COOR<4> of the glucuronic acid derivative when R<1> is H or protecting group and R<1> indicates group expressed by formula II [R<10>, R<12> and R<13> are H or protecting group; R<11> is azide or formula III (R<14> and R<15> are same as R<10>)] when R<1> is formula II; R<2> to R<8> are same as R<10>; R<9> is H, protecting group or formula IV (R<16> to R<19> are same as R<10>); (n) is 0-4, with the proviso that R<1> is formula II and R<9> is formula IV when (n) is 0; R<1> and R<9> are H or protecting group when (n) is 4, with the proviso that the protecting group is 1-8C alkyl, etc., which may be substituted}, an oligosaccharide having a galactosamine derivative, its salt, solvate or solvate of the salt, e.g. 4-O-(2-acetamido-2-deoxy-beta-D- galactopyranosyl)-D-glucopyranuronic acid. The compound expressed by formula I is obtained by reacting, e.g. a basic unit expressed by formula V (R is releasable group, etc.; N<1> is N-containing group) with a basic unit expressed by formula VI.

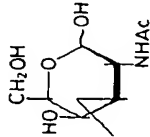
Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

【請求項7】前記式(1)において、R¹からR⁴およびR⁶からR⁹が水素原子であり、R⁵がアセチル基である請求項6に記載のグルクロン酸誘導体およびラクトサ

ミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項8】前記式(1)において、R¹が下記式(V)：式(V)

【化5】



で表される基であり、R²からR⁶およびR⁷が水素原子であり、R³がアセチル基である請求項6に記載のグルクロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物。

【請求項9】請求項1に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項10】請求項2に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項11】請求項3に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項12】請求項4に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項13】請求項5に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項14】請求項6に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項15】請求項7に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項16】請求項8に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項17】請求項1に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項18】請求項2に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項19】請求項3に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項20】請求項4に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項20】請求項4に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項21】請求項5に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項22】請求項6に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項23】請求項7に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項24】請求項8に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項25】請求項9に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項26】請求項10に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項27】請求項11に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項28】請求項12に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項29】請求項13に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項30】請求項14に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項31】請求項15に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項32】請求項16に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項33】請求項17に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項34】請求項18に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項35】請求項19に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項36】請求項20に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項37】請求項21に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項38】請求項22に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項39】請求項23に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項40】請求項24に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項41】請求項25に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項42】請求項26に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項43】請求項27に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項44】請求項28に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項45】請求項29に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項46】請求項30に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項47】請求項31に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項48】請求項32に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項49】請求項33に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

【請求項50】請求項34に記載のオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を少なくとも1つの有効成分とするアロロニダーゼ阻害剤。

いる【ケミカル フォーマジナチカル プリテン (Chem. Pharm. Bull.) 33巻、642頁 (1985年) および炎症4巻、437頁 (1984年)】。従って、ヒアルロニダーゼの活性を阻害する化合物を探索することは、新しい抗アレルギック作用、抗炎症作用を有する化合物を見出す一つの指針となり得るものである。

【0004】ヒアルロニダーゼは、ヒアルロン酸を加分解する作用を有する酵素である。ヒアルロン酸は、ム多糖の一種で、D-グルクロン酸とN-アセチル-D-グルコサミンから構成され、動物組織の細胞間質に多く、関節液、皮膚その他の結合組織に存在し、微生物や植物の侵入、伝播および細胞の死後の防止などに役立っていると考えられている。また、ヒアルロン酸は脊椎動物の卵細胞の外膜にも存在し、受精に際してヒアルロニダーゼで分解されると、精子の侵入が可能となる。

【0005】一方ヒアルロニダーゼは、超炎症の一種であると考えられており、炎症およびアレルギック反応を支配する酵素であるといわれている。また、哺乳動物では精子に存在し、受精に関与していることが知られている。また、ある種の病原菌は、ヒアルロニダーゼを分泌し、結合組織のヒアルロン酸を分解しながら組織に侵入することが知られている。従って、ヒアルロニダーゼを阻害する化合物は、抗アレルギック作用、抗炎症作用をはじめとして、例えば、避妊作用、癌転移抑制および抗腫瘍作用などの分野での利用が期待できる。

【0006】本発明は、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギック作用および抗炎症作用を有し、医薬として有用なオリゴ糖に関するものであり、関連する先行技術としては次のようなものがある。バイオケミカル アンド バイオフィジカル リサーチ コミュニケーション (Biochem. Biophys. Res. Commun.) 25巻、239頁 (1966年) は、NMRによる糖のコンホメーション固定に関するものであり、グルクロン酸 (以下、適宜GlcAと略す) およびN-アセチルガラクトサミン (以下、適宜GalNAcと略す) からなるGlcA (β1-3) GalNAc (β1-4) GlcA (β1-3) GalNAcが示されているが、医薬としての用途の記載はない。カルボハイドレート リサーチ (Carbohydr. Res.) 15巻、300頁 (1970年) は、GlcA (β1-3) GalNAcの記載があるが、塩基性条件による加水分解に関するもので、医薬としての用途の記載はない。西ドイツ特許DE2521765には、D-グルクロン酸が塩および留などの結晶の炎症および二次的に生じるアレルギック性皮膚炎、乾癬などに有効であるとの記載があるが、具体的な薬理データの開示はない。さらに、単糖

のみの開示であり、オリゴ糖に関する記載はない。フランス特許FR249452には、抗アレルギック作用、抗炎症および抗ヒスタミン作用を有するガラクトソリン酸メチルの記載があるが、具体的な薬理データの開示はない。また、単糖のみの開示であり、オリゴ糖に関する記載はない。特開昭59-501906号公報には、血凝阻、動脈硬化などに有効なガラクトサミンとグルクロン酸の交互配列を有するオリゴ糖およびその製法が記載されているが、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギック作用および抗炎症作用に関する記載はない。特開昭62-402号公報は、ガラクトサミンとグルクロン酸の交互配列を有するグリコサミノグリカンの硫酸化方法および硫酸化グリコサミノグリカンのうち、特に、構成単位単位数が8以下の物質が、糸球体腎炎、リウマチ性関節炎およびアレルギック性皮膚炎として見られるある種の過敏性皮膚炎のとき特定形態の免疫不均衡に起因するアレルギー性皮膚炎に対する有効性、ヒアルロニダーゼ阻害作用などについては開示がない。また、硫酸化されたオリゴ糖については記載がなく、また、ヒアルロニダーゼ阻害作用を有する個数オリゴ糖の記載があるが、後述の交互配列を有する個数オリゴ糖とヘキササミンのオリゴ糖については記載がなく、また、ヒアルロニダーゼ阻害作用、抗アレルギック作用および抗炎症作用の記載はない。

【0007】

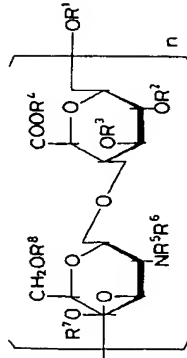
【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、抗炎症・抗アレルギック作用を有するオリゴ糖誘導体を提供することである。さらに本発明は、該オリゴ糖誘導体を少なくとも1つの有効成分とするヒアルロニダーゼ阻害剤、アレルギック性疾患治療剤および抗炎症剤を提供するものである。

【0008】

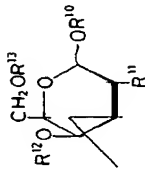
【課題を解決するための手段】前記課題を解決するため、本発明者らは化学合成したフラグメントおよび各種ム多糖を切断、単離したフラグメントの性状および薬理作用について検討した結果、本発明のオリゴ糖誘導体に、強力な抗アレルギック作用、抗炎症作用およびヒアルロニダーゼ阻害作用を見だし、本発明を完成するに至った。

【0009】すなわち、本発明の第1態様は、下記式(1)で表される構成単位2〜8個からなる、グルクロン酸誘導体およびガラクトサミン誘導体を有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、溶媒和物または塩の溶媒和物を提供するものである。式(1)

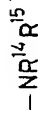
【化6】



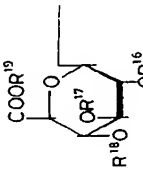
【式(11)中、R¹は水素原子、保護基または下記式(11)を表す。(ただし、R¹が水素原子または保護基である場合、OR¹はグルクロン酸誘導体のCOOR¹に対してトランス結合またはシス結合であつてもよい。また、R¹が式(11)である場合、式(11)【化7】



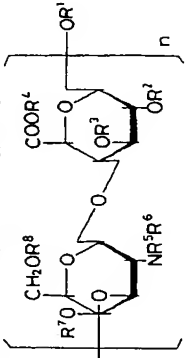
式(11)中、R¹⁰、R¹²およびR¹³は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R²からR⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R⁹は、水素原子、保護基または下記式(11)を表す。式(11)【化8】



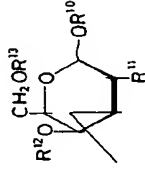
式(11)中、R¹⁴およびR¹⁵は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R²からR⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R⁹は、水素原子、保護基または下記式(11)を表す。式(11)【化9】



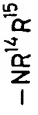
【式(11)中、R¹⁶からR¹⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、nは0から4の整数を表す。(ただし、nが0のとき、R¹は式(11)で表される基であり、R²は式(11)で表される基である。すなわち、下記式(11)で表されるオリゴ糖である。すなわち、下記式(11)で表されるオリゴ糖である。【化10】



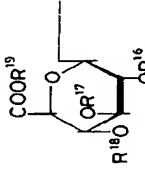
【式(1)中、R¹は水素原子、保護基または下記式(11)を表す。(ただし、R¹が水素原子または保護基である場合、OR¹はグルクロン酸誘導体のCOOR¹に対してトランス結合またはシス結合であつてもよい。また、R¹が式(11)である場合、式(11)【化11】



式(11)中、R¹⁰、R¹²およびR¹³は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R²からR⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R⁹は、水素原子、保護基または下記式(11)を表す。式(11)【化12】



式(11)中、R¹⁴およびR¹⁵は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R²からR⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R⁹は、水素原子、保護基または下記式(11)を表す。式(11)【化13】

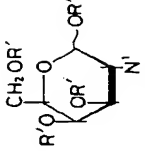


【式(11)中、R¹⁶からR¹⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、nは0から4の整数を表す。(ただし、nが0のとき、R¹は式(11)で表される基であり、R²は式(11)で表される基である。すなわち、下記式(11)で表されるオリゴ糖である。すなわち、下記式(11)で表されるオリゴ糖である。【化14】

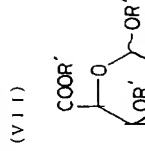
【式(11)中、R¹⁴およびR¹⁵は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R²からR⁸は同一または異なつて水素原子または保護基を表す。式(11)中、R⁹は、水素原子、保護基または下記式(11)を表す。式(11)【化15】

リデン、置換されていてもよいベンジリデン、または、置換されていてもよいフタロイルである。】
【0020】すなわち、本発明のオリゴ糖は、式(1)～(1V)で表され、下記式(VI)で示されるD-ガラクトサミン誘導体と下記式(VII)で示されるD-グルクロン酸誘導体とが交互に直鎖状に結合した構造からなるオリゴ糖である。具体例としては、2糖類、3糖類、4糖類をはじめとして、5糖類、6糖類、7糖類、8糖類がある。【化14】

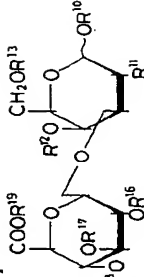
【0021】式(VI)
【化14】



【式(VI)中、N¹は窒素含有基を表し、R'は水素原子または保護基を表す。】
【0022】式(VII)
【化15】

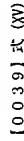


【式(VII)中、R'は水素原子または保護基を表す。】
【0023】式(VIII)
【化16】

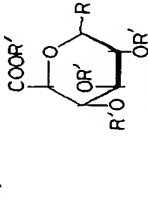


【0024】本発明で言う保護基とは、セオドラ グリーン グリッ (Theodora W. Green) 著、プロテクトイブ グループ イン オルガニックス (Protective Groups in Organic Synthesis) (第2版、1991年) に表されている各種の保護基を含むものである。【0025】上記式(1)～(1V)中で示される保護基は、置換されていてもよい炭素原子数1から8の直鎖または分枝鎖のアルキルとして例え、メチル、エチル、

(式 (XIV) 中、R は脱離基または OR' で表される基を、R' は水素原子または保護基を表し、N' は窒素含有基を表す) で表される基本単位および D-グルコン酸構造を有する、下記式 (XV) :



【化23】



(式中 (XV) 中、R は脱離基または OR' で表される基を表し、R' は水素原子または保護基を表す) で表される基本単位とするものであり、これら基本単位を適宜反転させ、必要に応じてさらに適宜処理することにより本発明のオリゴ糖が合成される。

【0040】合成に用いる基本単位のいづれか……つはアルコールであり、このアルコール官能基の有機基が式(XIV)の場合には3、4または6位のいづれかに存在し、式(XV)の場合には2、3または4位のいづれかに存在している。残りの基本単位の一方は、活性化されたアノマー残基を有している。これら2つの基本単位を用

を形成させる、二糖類を包むことである。同様に、このようにして式(IV)の化合物または式(XV)の化合物を適当な置換基 R で置き換えて、本発明の構成単位が有するグリコシル結合を合成することができる。式(XV)中の置換基 R は、好ましくはN-フマルミドもしくはN-エチルグルタミン酸基 NH_2 を有しているか、または、アミンの官能基前記置換基 R はアミン誘導体、特に、N-アール、より詳細にはN-アセチル等を有している方がよい。式(XV)の化合物の置換アルキル基は、グリコン反応の際にはアロカルブシール、アロカルブシール、置換されていてもよい芳香族アルキル、置換アルキル、中核糖をグリコシル化に用い、グリコン結合を形成後、第一級アルコールの選択的配保護および酸化によって硬化によっても得ることができるカルボキシ基

【0041】基本単位のうち、グリコシル反応に関与する活性化されたアノマー炭素を有する基本単位は、そのアノマー炭素以外のすべての位置が、水酸基、アミノ基、カルボキシ基またはこれらの開環体を持し、これらが同一または異なる保護基によって保護されているものを用いる。また一方、グリコシル結合が炭素に関与する水酸基を有する基本単位は、その水酸基以外のすべての位置が水酸基、アミノ基、カルボキシ基またはこれらの開環体を持し、これらが同一または異なる保護基によって保護されているものを用いる。グリコシル反応によって形成された基本単位には、アノマー炭素の活性化された基本単位は、アノマー炭素以外のすべての位置が、水酸基、アミノ基、カルボキシ基またはこれらの開環体を持し、これらが同一または異なる保護基によって保護されているものを用いる。

ピタラ（以下UT1と記す。）などの、コンドロイチンまたはコンドロイチン硫酸を有するグリコサミングリコチン酸が、例えば、UT1を出発原料として得られることができ、UT1を、メロエンズチンダーゼで処理することにより、例え、非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構成単位の数が偶数（例えば、4、6、8個など）であるフラグメント4を、 β -グルコニダーゼで処理することにより、非還元末端にN-アセチルグルコサミンを有し、構成単位の数が奇数（例えば、5、7個など）であるフラグメント5が得られる。また、例え、非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構成単位の数が偶数（例えば、4、6、8個など）であるフラグメント2を、 β -グルコニダーゼで処理することにより、フラグメント3が得られる。このフラグメント3をさらに低分子化する目的で、適当な条件でヒアルロニダーゼ処理することにより、例え、非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構成単位の数が偶数（例えば、4、6、8個など）であるフラグメント6が得られる。2、4、6個など）であるフラグメント6が得られる。なお上記の各工程で得られるフラグメントは、常法により、容易に精製し、目的とするオリゴ糖を得ることができ、容易に複製し、目的とする

【0044】これらのオキソ糖は、コンドロイチン硫酸、コンドロイチン酸、コンドロイチンなどのムコ多糖を原料物質として合成することができる。なお、出発原料となるコンドロイチン硫酸は、市販のものを購入するか、また合成する。例えばバイオケミカル プレパレーションズ (Biochem. Preparations) 10巻、52頁(1963年)に記載された方法により、軟骨から抽出して得ることができる。コンドロイチン、市販のものであることもできる。また、例えばカルボヒドレートリサーチ (Carbohydr. Res.) 46巻、87頁(1976年)に記載の方法に即して、コンドロイチン硫酸を分解することにより得ることができ、また、この化学的分解により、あるいは出荷が、また、得られたいムコ多糖の化学的分析により、あるいは出荷が、また、任意の置換基を有するオキソ糖を合成することにより、例えば、N-アセチルグルコースは、ジャーナル オブ バイオジェラル ケミストリー (J. Biol. Chem.) 240巻、992頁(1965年)に記載された方法によりコンドロイチン硫酸から得られた。同様に記載された方法により合成することができ、向々に記載された方法により合成したものと異なる。一般に、ムコ多糖をアルミニウムで処理した場合、その主生成物は非還元末端にD-グルクロン酸を有し、構造成果単位のみでは、構成成果単位が数個のフルロノースで処理されている。

フラグメントを定量的に得ることはできない。本実験では、ヒアルロンダーゼ処理に、 β -グルクロナダーゼおよびN-アセチル-N-ヘキサンニミンダーゼを適量組み合わせておくことにより、任意の構成数をもつ四糖および奇数個のフラグメントを得る方法と明示するものがある。また、ムコ多糖を、上記の方法で処理して得られたフラグメントは、酵素の認識部位の異質性から、還元末端はD-ガラクトサミン残基となる。還元末端がD-グルクロナン糖のフラグメントは、塩酸から化学合成することにより得ることができる。また、化学合成では、四糖または二糖を適量割合でさせる。また、適当な量を有するオリゴ糖を定量的に得ることによる。

[0045] 本発明のオリゴ糖誘導体は、コンドロイチン硫酸、ヒyaluron酸、ヘパリンなどを出発原料として得ることができる。コンドロイチン硫酸、腎臓、臍帯などの胎組織として上市されており、UTI（すい臓炎、急性膵炎、急性胆嚢不全）の治療薬として上市されている。本発明のオリゴ糖は、これら分解、精製することによって得られるものであり、その際、オリゴ糖の安全性は高い。

[0046] 次に、本発明の第2態様について述べる。本発明の第2態様は第1態様に記載のグロクロン錠剤および本発明の第2態様に記載のグロクロン錠剤を含有するオリゴ糖、該オリゴ糖の塩、グロクロン誘導体または塩の溶媒化物を少なくとも一つ含む有効成分とするアミノ酸阻害剤である。第1態様のオリゴ糖の含有量は、目的とする阻害作用の発現により適宜選択される。第2態様に含まれてもよい他の成分については、阻害作用密着の作用を失活しないものであればよい。本発明の第2態様である阻害剤のアミノ酸阻害作用は、以下に示す変例例などにより確認することができる。

【0048】本発明の第２態様は、アレルギー性炎症治療剤および抗疥癬薬として用いられる。本発明の第１態様のオリゴ糖類を、一般的に用いる適当な担体または溶媒の項、例えば必要に応じて水性懸濁液や植物油、更には生理学的に許容し得る溶液と溶解させ、グリセリン、プロピレングリコール（例え）である生薬成分を含む。

剤2mlに塩化ナトリウム3gを加え、6M水酸化ナトリウムにてpHを13.0に調整した後、n-ブタノール：クロロホルム＝3：2の溶液3.5mlを加え、15分間振盪した。3000rpm、5分間遠心分離し、上層を採取した。上層3mlにn-ブタノール3mlおよび0.1M塩酸1.5mlを加え、15分間振盪し、300.0rpm、5分間遠心分離した後、下層を採取した。下層1mlを1M水酸化ナトリウムにてpHを12.6に調整し、0.2%オルトフタル酸水溶液を含むメタノール0.1mlを加えて、0℃、40分間インキュベートした後、0.25M塩酸にてpHを3.0に調整した。ついで、励起波長360nm、測定波長40nmの蛍光強度を測定した後、ヒスタミン10-270ng/mlを含む塩化ナトリウム溶液(pH12.6)のオ

表 2

	IC50 (μg/ml)
実施例7の化合物	70.2
実施例8の化合物	73.3
実施例9の化合物	80.2
DSCG	696.6

表2に示すように、本発明の化合物は、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用を示した。本発明の化合物のヒスタミン遊離抑制作用は、いずれもDSCGよりも強力であった。

[0061] 実施例3：気道収縮抑制作用 (ラット)
体重200～250g雄性ウイスター系ラットに抗オポアルブミン(以下OAと略す)マウス血清5.0ml/kgを静脈内投与し、1日後、ペンタバルビタールナトリウム麻酔下は、気管にカニニューレを挿入した。気管カニニューレに小動物用人工呼吸器(SN480-7、シナ

表 3

	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)
実施例1の化合物	30	64
実施例7の化合物	10	38
実施例8の化合物	10	38
実施例9の化合物	30	92
DSCG	1	72

表3に示すように、本発明の化合物は、ラットにおいて気道収縮抑制作用を示した。
[0063] 実施例4：気道収縮抑制作用 (モルモット)
体重250～350gの雄性ハートレー系モルモットに抗OAモルモット血清1ml/kgを腹腔内投与し、1日後ウレタン麻酔下に気管にカニニューレを挿入した。気

ルトフタルアルデヒド反応の蛍光強度より、作成した標準曲線により、ヒスタミン含量を算出した。種々の濃度の本発明の実施例7、8、9の化合物を含むMCMを用いて算出したヒスタミン含量を[Test]、本発明の化合物を添加しないで同時に測定した場合の値を[Control]とし、次式によりヒスタミン遊離抑制率を算出した。

ヒスタミン遊離抑制率 (%) = $100 \times \frac{[Control] - [Test]}{[Control]}$
[0062] 実施例5：マウス運動皮質アフィラキシン(以下PCAと略す)反応抑制作用
体重20～40gの雄性ddy系マウスの背筋皮内に抗OAマウス血清50μlを投与し、2時間後にOA0.5mgを含む0.5%エバンスブルー溶液0.5mlを静脈内投与した。30分後にマウスを腹背し、抗体投与部位に生じる色素沈着部位の直径が5mm以上のものをPCA反応陽性として判定した。なお、本発明の化合物は5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、OA投与の1時間前に経口投与した。本発明の実施例2の化合物および実

施例3の化合物に、PCA反応抑制作用が認められた。

[0066] 以上の実施例1～5から明らかなように、本発明の化合物は、ヒアルロニダーゼ阻害作用、ラット肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制作用、ラットおよびモルモットアフィラキシン-気道収縮抑制作用、マウスPCA反応抑制作用を示し、安全性も高い。従って、本発明の化合物は、慢性関節リウマチ、変形性関節症、痛症、気管支喘息、結核炎、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、過敏症、中耳炎、アレルギー性胃腸炎、食物アレルギーおよび薬物アレルギーなどの各種炎症性疾患およびアレルギー性疾患の治療に極めて有用である。なお、本発明の化合物は、動物実験において、最大100mg/kgまで投与しても、死亡例および顕著な異常所見は認められなかった。従って、本発明の化合物は、安全性の高い、強力なヒアルロニダーゼ阻害剤、ひいては強力な抗アレルギー剤、抗炎症剤を提供するものである。

[0062]

道収縮反応を惹起させ、側路よりのエアロ・オーパーロー量をトランスジェネレーターを介して記録した。測定終了後に気管を閉塞し、これを最大反応として被験薬による反応の百分率を求めた。なお、本発明の化合物は5%

表 4

	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)
実施例2の化合物	100	30
実施例3の化合物	100	26

表4に示すように、本発明の化合物は、モルモットにおいて気道収縮抑制作用を示した。

[0068] 実施例1：
4-O-(2-アセチルミド-2-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-D-グルコピランウロン酸の製造

工程1

ハンス・ポールセン(Hans Paulsen)らの方法[カーボハイドレート・リサーチ(Carbohydrate Res.) 100巻、143頁(1982年)]に従い、3, 4, 6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-アフルイミド-α-D-ガラクトピラノシルプロミドを合成した。

[0069] 工程2

ジョセフ・キス(Joseph Kiss)らの方法[ジャーナル・オブ・カーボハイドレート・ヌクレオシド・ヌクレオチド(J. Carbohydrates Nucleosides Nucleotides) 4巻、101頁(1977年)]に従い、ベンジル2, 3-ジ-O-ベンジル-4, 6-O-ベンジリデン-α-D-グルコピラノジドを合成した。

[0070] 工程3

工程2で合成した化合物188g、パラトエンズルホン酸-水和物39g、メタノール1.75l、水0.7lを混合し、3時間還流した。反応液を冷却後、減圧下に濃縮し、反応液を約1/3量とし、クロロホルム500mlで3回抽出した。クロロホルム層を合わせ、水、飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒のクロロホルムを減圧下に留去し、残渣をヘキサンで洗浄し、結晶を得た。さらに酢酸エチル-ヘキサノールで再結晶し、ベンジル2, 3-ジ-O-ベンジル-α-D-グルコピラノジド332gを得た。

[0067]

[実施例] 以下に本発明の抗炎症・抗アレルギー作用を有するオリゴ糖誘導体のオリゴ糖の製造方法を実施例に示す。本発明は以下の実施例に限定されるものではない。各例について、必要に応じて¹H-NMRスペクトル(δ値, ppm)、¹³C-NMRスペクトル(δ値, ppm)、MASSスペクトル、IRスペクトルデータ(KB・透過法)などを記載した。なお、NMRスペクトルデータは、特記しない限り、CD Cl₃中、TMSを内面標準物質として測定した数値を

50

アラビアゴム水溶液に懸濁し、OA投与の1時間前に経口投与した。結果を表4に示した。

[0064]

状のパラトキシベンジルプロミドを得た。工程3で得た化合物20gをトルエン580mlに懸濁し、酸化ピス〔トリ-n-ブチルサズ(IV)] 15.3gを加え、2時間還流した。その間、ディーンスターク管で水を除きながら約300mlのトルエンを加えた。反応液の温度を80℃に放冷し、上記還流したパラトキシベンジルプロミドおよび臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム10gを加え、アルゴン雰囲気下で80℃で3時間攪拌した。放冷後、クロホルム2lで希釈した後、10%硫酸水素カリウム水溶液、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた油状の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル-ヘキサン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド13.5gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.36-7.19 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.08-4.45 (9H), 3.79 (s, 3H), 3.77-3.46 (6H), 2.46 (d, 1H)

【0072】工程5

工程4で得られた化合物7.1gを無水1,2-ジクロロエタン45mlに溶解し、モレキュラーシーブ4A 6.2gおよび2,4,6-トリニトロ-1,6,8mlを加え、室温で1.5時間攪拌した。跟トリアフル3.52gを加えた後、反応液を-25℃に冷却し、工程15で得た化合物6.8gの1,2-ジクロロエタン溶液35mlを添加した。反応液を室温に戻し、2時間攪拌した。さらに40℃で2時間攪拌した。放冷後、反応液をジクロロメタンで希釈し、不溶物を濾去後、10%チオ硫酸ナトリウム溶液、冷水、1M硫酸、飽和炭酸水素ナトリウム溶液で順次洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、得られた残渣15.9gをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(エーテル-ヘキサン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-6-O-(4'-メトキシベンジル)- α -D-グルコピラノシド9.2gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.6 (4H), 7.4-7.13 (17H), 6.85 (d, 2H), 5.08-4.45 (9H), 3.79 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (s, 3H) Mass (M+1) : 988

【0073】工程6

工程5で得られた化合物14gを無水メタノール1.2lに溶解し、アルゴン雰囲気下、氷冷し、0-2℃とし、1Mナトリウムメトキシ/メタノール溶液12.8mlを添加した。反応液を4℃で1時間攪拌後、反応液をダウケックス50Wで中和し、ダウケックス50Wを濾去後、溶媒を減圧下留去し、ベンジル2,3-ジ-O-

ベンジル-4-O-(2-デオキシ-2-フルクトシド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドを得た。本化合物は未精製のまま工程7に用いた。

NMR (δ ppm) : 7.9-7.6 (4H), 7.4-7.13 (17H), 6.83 (d, 2H), 5.08-4.45 (9H), 3.79 (s, 3H)

【0074】工程7

工程6で得られた化合物861mgをメタノール75mlに溶解し、ヒドラジン-水和物395mgを加え、28時間還流した。溶媒を減圧下留去し、残渣にベンジル10ml、無水酢酸7mlを加えて、室温で16時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、残渣をジクロロメタンで希釈し、10%硫酸水素カリウム水溶液で2回洗浄後、水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ジクロロメタン)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-4-O-(2-デオキシ-2-フルクトシド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド773mgを得た。

NMR (δ ppm) : 7.36-7.22 (17H), 6.96 (d, 2H), 5.22 (d, 1H), 5.0-4.2 (14H), 3.82 (s, 3H), 3.8 (1H), 3.7-3.4 (7H), 2.07 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.73 (s, 3H)

【0075】工程8

工程7で得られた化合物1.6gをジクロロメタン187mlに溶解し、水9.4mlを加えた後、2,3-ジクロロ-5,6-ジシアノ-p-ベンゾキノ4,12gを加えた。室温で2時間攪拌した後、反応液をジクロロメタン630mlで希釈し、水19ml(2回)、水125mlで順次洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン-酢酸エチル)で精製し、ベンジル2,3-ジ-O-ベンジル-4-O-(2-デオキシ-2-フルクトシド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシド8gを得た。

NMR (δ ppm) : 7.43-7.16 (15H), 5.8-5.6 (1H), 5.2-4.4 (11H), 4.1-3.5 (10H), 2.10 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), 1.81 (s, 3H) Mass (M+1) : 780

【0076】工程9

工程8で得られた化合物4gをアセトン115mlに溶解し、-5℃に冷却した後、三酸化クロム1.4gのWを濾去後、溶媒を減圧下留去し、残渣をジクロロメタンに

溶解し、10%硫酸水素カリウム溶液で2回、水で1回洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下溶媒を留去し、アセチル2,3-ジ-O-アセチル-4-O-(2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドクロン酸メチルエステル1.9gを得た。

NMR (δ ppm) : 6.32 (d, 1H), 5.8-3.8 (14H), 3.56 (s, 3H), 2.17-1.94 (21H)

【0080】工程13

工程12で得られた化合物0.4gをメタノール40mlに溶解し、1M硫酸を8滴加えた後40℃で6.5時間攪拌した。溶媒を減圧下留去し、アセチル2,3-ジ-O-アセチル-4-O-(2-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドクロン酸メチルエステル0.28gを得た。

NMR (δ ppm) : 5.35 (1H), 4.2-3.8 (12H), 2.2-1.9 (21H)

【0081】工程14

工程13で得られた化合物0.28gを無水メタノール28mlに溶解し、1Mナトリウムメトキシ-メタノール溶液0.39mlを氷冷下加えた。さらに1Mナトリウムメトキシ-メタノール溶液0.39mlを加え、5-10℃で2.5時間攪拌した。反応液をダウケックス50Wで中和した後、ダウケックス50Wを濾去し、減圧下溶媒を留去した。残渣をバイオグルP-2を用いたカラムクロマトグラフィーにより精製し、本発明のオリゴ糖である表題化合物4-O-(2-デオキシ-2-フルクトシド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドクロン酸メチルエステル77mgを得た。

NMR (δ ppm) : 5.23-3.1 (19H), 1.97 (s, 3H)

¹³C NMR (D₂O; δ ppm) : 177.4, 104.0, 98.7, 94.7, 82.5, 63.5, 49.2, 24.9

Mass (M⁺-1) : 396

IR (cm⁻¹) : 3350, 2900, 1740, 1630, 1370, 1040

【0082】実施例2

1-プロペニル2,3-ジ-O-ベンジル-4-O-(3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルクトシド- β -D-ガラクトピラノシル)- α -D-グルコピラノシドクロン酸メチルエステルの製造

工程1

実施例1工程1と同様に、3,4,6-トリ-O-アセチル-2-デオキシ-2-フルクトシド- α -D-ガラクトピラノシルプロミドを合成した。

【0083】工程2

800~4000の割合を集めて凍結乾燥した。凍結乾燥粉末40mgを超纯水0.8mlにて溶解し、超純水にて平衡化し、高濃液体クロマトグラフィーシステム(A)にC/GPC 204、ウォーターズ社製)に装置させたポリアニオンS1(ファルマシア社製)を充填したカラム(0.5×5.0cm)に吸着させた後、0~0.2M塩化ナトリウムによる濃度線度勾配洗出を行なった。0.1M塩化ナトリウム溶出画分をメイオグルペー2(バイオラッド社製)を充填したカラムを用いて吸出した後、凍結乾燥し、本発明のオリゴ糖である表題化合物を得た(実施例7の化合物からの収率:34.7%)。

分子重:600
実施例7と同様の方法により、クロン酸含量およびガラクトサミン含量を測定した。
クロン酸含量(%) : 25.2
ガラクトサミン含量(%) : 64.8

[0109] 実施例9:
O-β-D-グルコピランウロシル-(1→3)-2-アセタミド-2-デオキシ-D-ガラクトピラノース:[C1cA(β1-3)GalNAc]の製造
実施例8の化合物3mg/mlを含む超纯水60μlにN-アセチル-β-D-ヘキシサミニダーゼ125U/mlを含む0.1Mクエン酸-燐緩衝液(pH4.0)240μlを加え、37℃、48時間インキュベートした後、0.1M重炭酸アンモニウムにて中和化したパイオグルペー2(バイオラッド社製)を充填したカラム(2.6×100cm)を用いてグルコースを洗出した。分子重200~600の割合を集めて凍結乾燥し、本発明のオリゴ糖である表題化合物を得た(実施例8の化合物からの収率:50.0%)。

分子重:397
実施例7と同様の方法により、クロン酸含量およびガラクトサミン含量を測定した。

クロン酸含量(%) : 39.8
ガラクトサミン含量(%) : 35.4
[0110] 次に、本発明の化合物を含有する製剤の実施例を実施例A~Dにおいて示すが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。各実施例A~Dに用いられる本発明のオリゴ糖導体である化合物は、上述の実施例1、7、8、9の表題化合物である。

[0111] 実施例A:錠剤
実施例7の化合物 10g
ポリエチレングリコール6000 10g
ラウリル硫酸ナトリウム 1.5g
コーンスターチ 3g
乳糖 25g
ステアリン酸マグネシウム 0.5g
上記成分を秤量した後、ポリエチレングリコール6000を70~80℃に加温し、これに実施例7の化合物、

ラウリル硫酸ナトリウム、コーンスターチおよび乳糖を加え配合後そのまま冷却する。固化した配合物を粉砕器にかけて造粒する。本顆粒をステアリン酸マグネシウムと混合後圧縮打錠して重量250mgの錠剤とする。

[0112] 実施例B:錠剤
実施例8の化合物 30g
乳糖 55g
ポテト澱粉 12g
ポリビニルアルコール 1.5g
ステアリン酸マグネシウム 1.5g
上記成分を秤量した後、実施例8の化合物、乳糖、ポテト澱粉を均一に混合する。この混合物にポリビニルアルコールの水溶液を加え、湯式顆粒造粒法により顆粒を調製する。この顆粒を乾燥し、ステアリン酸マグネシウムを混合した後圧縮打錠して重量200mgの錠剤とする。

[0113] 実施例C:カプセル剤
実施例1の化合物 10g
乳糖 25g
微結晶セルロース 5g
ステアリン酸マグネシウム 0.5g
上記成分をそれぞれ秤量した後、ステアリン酸マグネシウム以外の4成分を均一に混合する。ステアリン酸マグネシウムを加えた後さらに数分間混合する。混合粉末をNo.1のハードカプセルに200mgずつ充填し、カプセル剤とする。

[0114] 実施例D:散剤
実施例9の化合物 20g
乳糖 79g
ステアリン酸マグネシウム 1g
上記成分をそれぞれ秤量した後、均一に混合して20%散剤とする。

[0115] 実施例E:坐剤
実施例1の化合物 100g
ポリエチレングリコール1500 180g
ポリエチレングリコール4000 720g
実施例1の化合物を乳糖でよく研磨して微細な粉末とした後、熔融法によって1gの直腸坐剤とする。

[0116] 実施例F:注射剤
実施例8の化合物 0.1g
塩化ナトリウム 0.9g
水酸化ナトリウム 適量
注射用滅菌蒸留水 100ml
上記成分をそれぞれ秤量した後、注射用滅菌蒸留水に溶解し、滅菌後10mlアンプルに5mlずつ分注し、密封して注射剤とする。

[0117]
【発明の効果】 本発明のオリゴ糖導体は、強力なヒアルロニダーゼ阻害作用を示し、また、ラット肥満細胞から

のヒスタミン遊離抑制作用、ラットおよびモルモットにおけるアナフィラキシー気逆放散抑制作用、マウスPCA反応抑制作用など、炎症、アレルギーおよび喘息などのアレルギー疾患性疾患およびアレルギー性疾患の治療に極めて有用である。また、本発明は、このような優れたアレルギーモデルにおいて顕著な治療効果を示し、安全性も高い。従って、これらのオリゴ糖導体は、慢性関節リウマチ、変形性関節症、膝痛症、気管支喘息、結膜炎、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、過敏症、枯

フロントページの続き
(51)Int. Cl.⁵
// C07H 13/06
15/10
F1

(72)発明者 西 島 和 三
東京都新宿区四谷一丁目7番地 特田製薬株式会社内